1925

Aus dem bakteriologischen Institut der Landwirtschaftskammer für die Provinz Westfalen zu Münster i. W.

Direktor Dr. Sachweh.

Lane Medical Library

Untersuchungen über den Nachweis von Tuberkelbazillen durch die Anreicherungsverfahren nach Scharr und Machens.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

veterinärmedizinischen Fakultät

der

Hessischen Ludwigs-Universität

GIESSEN.

Vorgelegt von

Adolf Tieding,

Schlachthofdirektor in LINGEN (Ems).

Buchdruckerei Aug. Caspari, Lingen.

Gedruckt mit Genehmigung der veterinärmedizinischen Fakultät zu Giessen.
Referent: Professor Dr. Zwick.

Die mikroskopische Diagnose der Tuberkulose, die für die richtige und schnelle Durchführung des Tuberkulose-Tilgungsverfahrens nach von Ostertag von hervorragender Bedeutung ist, ist gegenwärtig in ein neues Stadium getreten. Es ist ganz einleuchtend, daß den Entschädigung leistenden Behörden recht beträchtliche Unkosten entstehen können, wenn die Diagnostik nicht auf der richtigen Basis aufgebaut ist. Andererseits gerät das ganze Tuberkulose-Tilgungsverfahren durch eine Kette von Fehlschlüssen in Mißkredit und dadurch wird die Neigung der Besitzer zum Anschluss an das Verfahren mehr oder weniger eingeschränkt.

Im Allgemeinen beschränkt sich die Diagnose darauf, durch Ausstriche, und so ist es ja auch vorgeschrieben, das zur Untersuchung gelangende Material (Lungenauswurf, Milch, Gebärmutterschleim, — Kot fällt für die mikroskopische Untersuchung weg —) nach vorheriger Färbung mit Carbolfuchsin, Entfärbung mit Salzsäure - Alkohol, Nachfärbung mit Methylenblau, zu fixieren und dann auf die rotgefärbten Tuberkelbazillen zu fahnden.

Wo die mikroskopische Untersuchung nicht zum Ziele führt, ähnlich wie bei Kot, wird das Material bei entsprechender Vorbereitung an Meerschweinchen verimpft und 6 Wochen später wird das Ergebnis am getöteten Meerschweinchen abgelesen.

Zur schnelleren Durchführung eines eingeleiteten Entschädigungsverfahrens kann die Tötung des Meerschweinchens bei manuell festgestellter Tuberkulose (Vergrößerung der Lenden- und Kniefaltenlymphknoten) schon vor Ablauf von 6 Wochen erfolgen.

v. Ostertag (1) hat in seinem Werke: „Die Bekämpfung der Tuberkulose des Rindes" auf etwa 45 Seiten eine ganze Reihe von Methoden angegeben, durch die sowohl mikroskopisch als auch durch Verimpfung der Nachweis der Tuberkulose bei den in Frage kommenden Tieren mit großmöglichster Sicherheit geführt wird. Er gibt auch zu, daß die beste Färbemethode die Färbung nach Ziehl-Neelsen ist, die sich aufbaut auf dem Prinzip der durch die wachshaltige Protoplasmahülle bedingten Säurefestigkeit des Tuberkelbazillus.

Gasis (2) hat die Alkalifestigkeit entdeckt und baut ein besonderes Färbeprinzip auf dieser Erkenntnis auf, bei dem statt mit Salzsäure-Alkohol nach Vorfärbung des Ausstriches mit 1% Eosinlösung und Quecksilberchlorid mit 0,5 Natriumhydrat, 1,0 Kaliumjodid und 100 ccm. 50% Alkohol entfärbt wird, und danach mit Methylenblau als Kontrast zu färben ist. Diese Färbemethode hat sich nicht eingeführt.

Eine größere Bedeutung hat die Spengler'sche Pikrinsäurefärbung oder das sogenannte Farbfixationsverfahren erlangt, das einfacher als die Ziehl-Neelschen'sche ist und das jetzt gegenwärtig an allen Instituten, die sich mit der Diagnose der Tuberkulose beschäftigen, angewandt wird. Bei diesem Verfahren zeigen sich auch Splitter, Granula der Tuberkelbazillen und es steht dadurch auf gleicher Höhe mit der Much'schen verlängerten Gramfärbung. Es hat aber vor dieser den Vorteil einer größeren Bequemlichkeit in der Anwendung. Der Ausstrich wird auch hierbei mit Carbolfuchsin vorgefärbt und zwar nach Erwärmen 5 Minuten. Dann Pikrinsäure-Alkohol nach Abgießen des Fuchsins 2-3 Sekunden und dazu 3-4 Tropfen 15%iger Salpetersäure und wieder Pikrin bis zur schwachen Gelbfärbung von Sputumbelägen, 5-10 Sekunden Wasserspülung und Trocknung.

Für die Institute kommt eine Vereinfachung der Methode in Frage, die darin besteht, daß man mit Carbolfuchsin unter Erwärmung vorfärbt, darauf in 20%iger Schwefelsäure nach vorherigem Abspülen entfärbt, und und zwar wiederholt, weil bei Zusatz von Wasser die Entfärbungsgrenze immer wieder in rot umschlägt. Die Schwefelsäure muß also bis zur vollständigen Entfärbung wiederholt einwirken und zwar derart, daß der Objektträger in verschiedenen Etappen in Schwefelsäure getaucht und dann wieder unter Wasser gebracht wird, jedenfalls solange, bis vollständige Entfärbung eingetreten ist. Darnach wird der Ausstrich mit gesättigter Pikrinsäurelösung überschichtet, die man 1-3 Minuten je nach Dicke des Ausstriches einwirken läßt. Diese Färbung ist als Begleitfärbung neben der Ziehl-Neelsen'schen nach den Erfahrungen des Bakteriologischen Instituts die brauchbarste, zumal da sie nur Tuberkelbazillen im Ausstrich erkennen läßt, während alles andere (Bakterien und Zellen) ungefärbt ist und bleibt, oder jedenfalls so schwach gefärbt ist, daß das Gesamtbild, wie manchmal beim Methylenblauausstrich, in keiner Weise beeinträchtigt wird.

Adam (3) vertritt denselben Standpunkt, und ist der Meinung, daß die Pikrinsäuremethode nach Spengler der Ziehl-Neelsen'schen Färbemethode vollkommen gleichwertig sei.

In demselben Werke hat v. Ostertag (1) schon Methoden zur Einengung der Tuberkelbazillen in schwach bazillenhaltigem Material für den mikroskopischen Nachweis angegeben. Das sind aber alles Methoden, die mit Ausnahme des Antiforminverfahrens hauptsächtlich für die Untersuchung von menschlichem Sputum in Frage kommen.

Auf diesem Gebiete haben vornehmlich Mühlhäuser und Czaplewski (4) gearbeitet. Hier wird Sputum in 2-4facher Menge mit Natriumhydratlösung vermischt, darauf wird das mit Gummistopfen verschlossene Gefäß bis zur vollständigen Homogenisierung kräftig geschüttelt, das Gemisch wird in einer Porzellanschale bis zum Sieden erhitzt und darauf läßt man es in einem Spitzglase eventuell nach Neutralisierung mit 5%iger Essig-

säure absetzen oder nach Zusatz der 2fachen Menge 90% Alkohols ausschleudern. Der Bodensatz wird dann zur Herstellung von Ausstrichen verarbeitet. Das Verfahren hat sich auch nicht eingeführt. Neuerdings ist aber von Gasis (2) das Natriumhydratverfahren benutzt, um aus Sputum Tuberkelbazillen in Reinkultur zu isolieren.

Eine gewisse Bedeutung hat das sogenannte Ligroinverfahren nach Lange und Nitsche (5) erlangt, bei dem es darauf ankommt, nach der Homogenisierung statt der Zentrifugalkraft durch den Auftrieb des spezifisch leichteren Ligroins (Kohlenwasserstoff C N H2 N) die festgestellte Affinität des Tuberkelbazillus zu diesen Kohlenwasserstoffen zu benutzen. Die Methode hat auch einige Nachteile insofern, als der Kohlenwasserstoff ein bestimmtes nicht zu niedriges spezifisches Gewicht haben muß, weil sonst die Tröpfchen zu leicht nach oben steigen und die spezifisch schwereren Tuberkelbazillen nicht mit nach oben gerissen werden, da sie nicht lange genug mit dem Ligroin in Berührung sind. Es darf aber auch der Siedepunkt nicht zu hoch sein, weil sonst die Verdunstung zu langsam erfolgt, und damit die Gefahr besteht, daß die Tuberkelbazillen mit dem Material von dem Objekträger abgeschwemmt werden. Bei der Anwendung der Methode werden 5 ccm. Sputum mit 50 ccm. Normalkalilauge in einen Schüttelzylinder gebracht, dann 3 Stunden lang nach vorherigem Umschütteln bis zur vollständigen Homogenisierung des Sputums in den Brutofen gesetzt und nach Zusatz von 50 ccm. Wasser wird wieder kräftig geschüttelt. Darauf werden 2 ccm. Ligroin zugesetzt und solange geschüttelt, bis eine dicke weißliche Emulsion entstanden ist.

Das Material wird in 65° Wasserbad gesetzt bis zur sichtbaren Trennung des Kohlenwasserstoffes vom übrigen Material. Darauf werden beliebig verschiedene Oesen an der Grenzschicht unterhalb des Ligroins entnommen und auf den Objektträger gebracht. Dann wird fixiert und gefärbt wie gewöhnlich.

Für tierische Sputa kommt das Verfahren kaum in Frage, weil die Menge des Auswurfes im Gegensatz zu der des Menschen viel zu gering ist. Und das ist ja auch ganz erklärlich, da der Tuberkuloseprozeß beim Rinde ganz anders verläuft, als beim Menschen. Diese Methode hat für tierärztliche Untersuchungen lediglich historisches Interesse.

Am besten eignet sich zu Verflüssigung bezw. Homogenisierung des Sputums das Antiforminverfahren. Das Antiformin, das aus Eau de Javelle und Natronlauge besteht, hat die ausgezeichnete Eigenschaft, Bakterien und Beimengungen von organischen Substanzen zu lösen.

Nach v. Ostertag (1) werden Staphylokokken durch 2%ige Antiforminlösung nach 7 Minuten vollständig aufgelöst, ebenso lösen sich ferner sehr leicht Streptokokken, Pneumokokken und andere Kokkenarten. Milzbrandbazillen sind schon resistenter, sie werden durch eine 2%ige Antiforminlösung erst nach 30-40 Minuten gelöst, während alte Milzbrandsporen selbst nach 24 Stunden noch nicht vollkommen gelöst sind.

Ein Vorteil des Antiformins liegt ferner darin, daß es zu erwärmen ist und daß stärkere Lösungen, die zugleich erwärmt sind, schneller und ergiebiger die Lösung von Bakterien und organischem Material herbeiführen.

Für die Tuberkulose-Diagnostik hat nun das Antiforminverfahren insofern Bedeutung erlangt, als man feststellte, daß Tuberkelbazillen und andere säurefeste Stäbchen, wie Gras-, Mist-, Butter- und Smegmabazillen nicht aufgelöst werden, sondern antiforminfest sind. Selbst die konzentrierteren Lösungen bleiben unverändert. Sogar nach monatelanger Einwirkung tritt eine Auflösung der Tuberkelbazillen nicht ein.

Für die Kotuntersuchung hat sich das Antiformin eine noch heute bestehende Bedeutung bewahrt, zumal da selbst feste Kotballen in eine homogene Masse verwandelt werden und Kot bekanntlich erst nach Antiformineinwirkung und nachfolgender Beseitigung des Antiformins durch Auswaschen in einen Zustand gesetzt werden kann, der ihn für die Verimpfung an Meerschweinchen geeignet erscheinen lässt.

Es erscheint unnötig, auf die verschiedenen Abänderungen des Antiforminverfahrens einzugehen. Wichtig in Bezug auf den Inhalt dieser Arbeit ist der Hinweis v. Ostertag's in seinem Werke, daß die Bedeutung des einfach kombinierten Antiforminverfahrens, soweit der mikroskopische Nachweis von Tuberkelbazillen in Frage kommt, im allgemeinen gering ist. Hier soll nur darauf hingewiesen werden, wie die Methode der Untersuchung des Kotes nach den Ausführungsbestimmungen des Reichsviehseuchengesetzes durchzuführen ist.

Folgendermaßen wird verfahren:

Kot ist vor der Verimpfung zur Abtötung von Begleitbakterien, die Meerschweinchen rasch töten können, mit Antiformin zu behandeln. Etwa 30 g. des zu untersuchenden Kotes werden mit 15 ccm. Antiformin und 55 ccm. destilliertem Wasser vermischt, die Mischung wird 2-3 Stunden stehen gelassen und während dieser Zeit öfter umgeschüttelt. Darauf wird die Mischung $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde lang zentrifugiert und sodann die hierbei in den Zentrifugenröhrchen von dem Bodensatze sich abscheidende Flüßigkeit abgegossen. Ist dies geschehen, so wird der Bodensatz mit 10 ccm. destilliertem Wasser aufgeschwemmt, durch sterilisierte (ausgekochte) Gaze oder grobe Leinwand geseiht, und je die Hälfte der durchgeseihten Flüssigkeit an Meerschweinchen verimpft. Die vorgängige Behandlung mit Antiformin kann auch bei Lungenauswurf und Ausflußmaterial aus der Gebärmutter angewandt werden, wenn sich zeigen sollte, daß nach Verimpfung dieses Materials häufiger vorzeitig Todesfälle bei den Impftieren eintreten. Bei Lungenauswurf und Ausflußmaterial aus der Gebärmutter ist jedoch das Antiformin in etwa 5%iger Mischung zu verwenden.

Die Methode hat heute von ihrer Bedeutung nichts verloren, wie schon angedeutet, aber es ist erfreulich, daß doch noch Nachprüfungen der Ostertag'schen Auffassungen von der mangelhaften Bedeutung des Anti-

formins vorgenommen wurden, und zwar hat wohl als erster Machens (6) diese Nachprüfung auf einer anderen Basis durchgeführt.

In dieser Arbeit, die er als vorläufige Mitteilung brachte, bemängelt Machens, daß die mit dem Lungenschleimfänger entnommenen Proben Untersuchungsmaterial ergaben, das einerseits keine Schleimflocken enthielt, andererseits aber stark durch Futterpartikel verunreinigt war. Diese Unzulänglichkeit der Proben brachte es mit sich, daß wiederholt Proben zum zweiten Mal angefordert werden mußten. Die Schwierigkeiten lagen auf der Hand, denn es versteht sich von selbst, daß vielfach Proben von Tieren stammten, bei denen die schnelle Untersuchung und Erledigung im positiven Sinne dringend geboten erschien. Kamen die zweiten Proben verspätet an, oder lag der Fall so, daß die zweite Probe genau so wenig zur Untersuchung geeignet war wie die erste, so war das Entschädigungsverfahren glatt in Frage gestellt, wie überhaupt die geordnete Durchführung des Tuberkulose-Tilgungsverfahren ja von der schnellen und sicheren Ermittelung der Tuberkulose vollständig abhängig ist. Gerade diese Beobachtung hat Machens veranlaßt, das Antiforminverfahren nochmals einer genauen Nachprüfung zu unterziehen und weil es ihm in erster Linie darauf ankam, den Bodensatz zu gewinnen, an dessen Gewinnung die anderen über das Antiforminverfahren arbeitenden Autoren vorübergegangen waren. Machens änderte die Trommsdorff'schen, für die Milch-Eiterprobe verwandten Röhrchen ab und zwar derart, daß er Zentrifugierröhrchen von 15 ccm. Rauminhalt herstellen ließ, die sich allmählich verjüngten und in der Form eines Flaschenhalses in eine Kapillare ausliefen. Der Glasmantel ist hierbei nicht, wie bei den Original-Trommsdorff'schen Röhrchen, an die Kapillare angeschmolzen, sondern sitzt schon an der trichterförmigen Einziehung des Röhrchens. Weil nun die Glaswand und der neue angeschmolzene Mantel des Glasröhrchens in einer Ebene liegen, ist eine Bruchgefahr beim Zentrifugieren ganz wesentlich verringert. Die untere Oeffnung des angeschmolzenen Mantels dient zur Aufnahme eines Gummistopfens, der genau eingepaßt sein muß und der sich beim Zentrifugieren von selbst so weit vordrückt, dass die Kapillare während des Zentrifugierens geschlossen ist. Ausserdem hat der Mantel eine kleine Seitenöffnung, die den Zweck haben soll, Luftkompression und damit neue Bruchgefahr zu vermeiden und andererseits beim Herausnehmen des Stopfens nach dem Zentrifugieren im Hohlraum keinen negativen Druck entstehen zu lassen, durch den sich der Inhalt der Kapillare vorzeitig entleerte. Das Hauptröhrchen ist ebenfalls mit einem durchbohrten Gummistopfen versehen, in dessen Durchbohrung ein Glaspfeil sitzt.

Nach Machens wird das mit Antiformin vorbehandelte Material zuerst in einem grösseren Zylinder bei 4000 Umdrehungen in der Minute $^1/_4$ Stunde lang zentrifugiert. Die über dem Bodensatz befindliche Flüssigkeit giesst er ab und der Bodensatz wird dann mit 10 ccm. Wasser aufgeschwemmt. Darauf erst wird das Material auf das Röhrchen gefüllt und dann 10 Minuten lang bei 1500 Umdrehungen in der Minute nochmals

zentrifugiert. Um den Bodensatz nunmehr aus der Kapillare herauszubringen, genügt nach Entfernung des an dem Mantel befindlichen Gummistopfens ein kleiner Druck auf den Glaspfeil und es entweicht sofort ein Tropfen des Bodensatzes aus der Kapillare. Innerhalb eines Zeitraumes von 8 Monaten hat Machens bei 46 Proben Tuberkelbazillen nachweisen können, bei denen die einfache mikroskopische Untersuchung negativ ausgefallen war. Eine prozentuale Berechnung, wie sich die Proben auf eine gewisse Gesamtzahl der Untersuchungen überhaupt verteilen, ist leider nicht erfolgt. Es wäre dann eher möglich gewesen, die Bedeutung des Antiforminverfahrens für diesen Zweck kennen zu lernen. Jedenfalls sind aber von der Zeit ab zahlreiche Untersuchungen in den einzelnen Instituten mit gutem Ergebnis vorgenommen worden.

Im Bakteriologischen Institut der Landwirtschaftskammer für die Provinz Westfalen hat man eine Zeitlang sich dieser Untersuchung verschlossen, und zwar aus dem Grunde, (eigene Mitteilung des Direktors Herrn Dr. Sachweh) weil nach dem Kriege sofort durch entsprechende Belehrung der Tierärzte auf die Bedeutung der Lungenschleimentnahme mit der Trachealkanüle hingewiesen worden ist, sodaß für die Tuberkulose-Untersuchungen nur solche Proben in Frage kamen, die mit der Trachealkanüle entnommen waren. Die Methode ist sauberer und zweifellos einwandfreier, da in der Tiefe der Lunge die bei der Rachenschleimentnahme häufig auftauchenden sogenannten säurefesten Stäbchen nur dann gelegentlich zu finden sind, wenn eine schwere Leberegelinvasion vorliegt.

Es ist erst im Laufe der Zeit erkannt worden, daß die Proben sachverständig entnommen sein mußten, denn wenn nicht genügend Sekret an den Tupfern vorhanden ist, wird natürlich der gewöhnliche mikroskopische Nachweis ohne Vorbehandlung des Materials ebenfalls unsicher, sodaß man zur Verimpfung schreiten muß.

Auch sonst sind Besonderheiten bei der Lungenschleimentnahme mit der Trachealkanüle zu beachten, denn es ist zweifellos, daß sich das positive Ergebnis um eine große Zahl Fälle vermehren läßt, wenn der Untersucher technisch vollkommen durchgebildet ist. Das geht soweit, daß man genau zu entscheiden vermag, von welchem Untersucher bestimmte Proben entnommen sind.

Angeregt durch die Forschungen von Machens prüfte und änderte nun Scharr (7) dieses diagnostische Verfahren, und zwar hat er Untersuchungen mit 158 Proben von solchen Rindern, die mit dem Verdacht der Lungentuberkulose behaftet waren, angestellt. Es handelte sich hierbei ausschließlich um solche Proben, die durch Pinsel mit Hilfe der Trachealkanüle aus der Luftröhre gewonnen waren. Scharr teilte sein Vorgehen in drei Phasen ein und zwar:

„1. Mikroskopische Untersuchung der aus den eingesandten Proben hergestellten Ausstrichpräparate;

2. bakterioskopische Prüfung der negativen Proben nach Behandlung mit Antormin unter Berücksichtigung der Machen'schen Methode;

3. Verimpfung der auch nach diesem Verfahren sich als negativ erweisenden Proben an Meerschweinchen."

Nach der 13. Probe erfuhr die Versuchsanordnung aber schon Abänderungen in dem Sinne, daß statt der Machens'schen Röhrchen einfache Agglutinationsröhrchen benutzt wurden. [1]

Ferner nahm Scharr statt des Antiformins 2%iges Glyzerinwasser. Scharr meint nun, daß Antiformin für die mit der Trachealkanüle entnommenen Proben an sich schon in Wegfall komme, weil diese Proben stets frei von Begleitbakterien seien. Das ist aber auch ein Irrtum, wie sich mancher zeigen wird.

Er ging dann in der Weise vor, daß er die Luftröhrenpinsel mit 10 ccm. destilliertem, 1 Stunde lang durchkochtem und abgekühltem Wasser im Reagenzgläschen aufweichte. Die Reagenzgläschen wurden dann 1 Stunde lang im Wasserbade bei 60° gehalten, gründlich durchgeschüttelt und die so erzielte Abschwemmung auf Agglutinationsröhrchen gefüllt und diese dann 10 Minuten lang bei 3000 Umdrehungen zentrifugiert. Daraufhin wurde der Bodensatz mittels Platinöse auf einen Objektträger ausgestrichen und nach Spengler gefärbt.

Als bei diesem Vorgehen Scharr die Beobachtung gemacht zu haben glaubte, daß in denjenigen positiven Proben, die vor oder nach dem Aufenthalt im Wasserbade mehrere Stunden gestanden hatten, der Nachweis der Tuberkelbazillen viel schneller gelang als sonst, schloß Scharr daraus, daß die Tuberkelbazillen in den Proben sich vermehrt hätten. In einer Tabelle, die Scharr zusammenstellt, zeigt sich, daß die Tuberkelbazillen in den Proben nach 24 Stunden sich anscheinend gegenüber dem Ausstrich aus unvorbehandelten Proben vermehrt hatten. Es zeigt sich aber andererseits, daß in denselben Proben nach 48 Stunden wieder eine Verminderung merkwürdigerweise stattgefunden hatte. Scharr gibt für diese Verminderung der Tuberkelbazillen der Vermutung Ausdruck, daß die Tuberkelbazillen an ihrer Fähigkeit, den Farbstoff festzuhalten, eingebüßt hätten. Im Uebrigen läßt er die Frage einstweilen noch offen. [2]

Auf Grund seiner Untersuchungsergebnisse behauptet Scharr, daß es möglich sei, im Gegensatz zum Antiforminverfahren, das eine Einengung der Turberkelbazillen im Gefolge habe, mit seinem Verfahren eine wirk-

1) Die Vorteile dieses Röhrchens für die Tuberkulose-Untersuchung sollen nach Scharr darin bestehen, dass die Röhrchen weniger leicht zerbrechlich und leichter zu reinigen seien. Es wird sich nachher beweisen lassen, dass diese Annahme einer schlechteren Reinigungsmöglichkeit des Machens'schen Röhrchens ebenso wie die Auffassung von dessen grösserer Zerbrechlichkeit nicht zutrifft.

2) Dann wurden lediglich die Luftröhrenpinsel in der Weise behandelt, dass sie in Röhrchen gebracht wurden in denen 10 ccm. 2%iges Glyzerinwasser (Aqua dest.) sich befand. Die Röhrchen mit den Proben wurden darauf 24 Stunden in den Brutofen gesetzt bei 38 0 und dann gut durchgeschüttelt und die Abschwemmungen in den Agglutinationsröhrchen bei 3000 Umdrehungen zentrifugiert. Selbstverständlich wurde vor jeder Bearbeitung der Probe in der angegebenen Weise ein Teil des Materials im Ausstrich geprüft.

Der Bodensatz wurde mit der Platinnadel entnommen und die überstehende Flüssigkeit vorsichtig eingedampft, darnach der Ausstrich nach der Spengler'schen Methode gefärbt.

liche Anreicherung der Tuberkelbazillen herbeizuführen, die in der innerhalb 24 Stunden eintretenden Vermehrung ihre Ursache habe. Er glaubt annehmen zu dürfen, daß der Nachweiß der Tuberkelbazillen auf mikroskopischen Wege unter Ausschluss des Tierversuchs möglich sei.

Es war einleuchtend, daß dieses Verfahren eine ganz erhebliche Vereinfachung der Diagnostik gebracht hätte, sodaß es unbedingt geboten schien, eine Nachprüfung hierüber vorzunehmen. Denn wenn eine 95%ige Ausbeute an positiven mikroskopischen Ergebnissen erzielt worden konnte, dann war es einmal möglich, mit dem Verfahren den kostspieligen und langwierigen Meerschweinchenversuch derart auszusetzen, dass er praktisch überhaupt nicht in Frage kam, und damit war eine erhebliche Verbilligung des Verfahrens erzielt. Zweitens fand auch eine bedeutende Beschleunigung statt, sodass, wie schon angedeutet, im hiesigen Institut Proben auf breiter Basis untersucht werden konnten.

Auch ich erhielt die Aufgabe, vergleichende Untersuchungen der Scharr'schen Methode anzusetzen, um festzustellen, ob das eine Verfahren dem anderen überlegen sei.

Ich bediente mich zur Anstellung meiner eigenen Versuche in keinem Falle der Agglutinationsröhrchen, sondern der Machens'schen, die sich bei zweckentsprechender Anfertigung, ebenso wie die aus Friedensmaterial hergestellten Gummistopfen leicht reinigen und sterilisieren liessen. Die Verwendung der Agglutinationsröhrchen Scharr's bedeutet nach meiner Ueberzeugung gar keinen Vorteil, zumal die Gewinnung des Materials bei der Machens'schen Tropfmethode ungleich ergiebiger erfolgt, als bei der Entnahme aus dem Bodensatzschlamm der Agglutinationsröhrchen. Jedenfalls glaube ich kaum, dass ausschlaggebende Einwendungen gegen meine Versuchsanordnung zu erheben sind, weil ich die Machens'schen Röhrchen verwandte.

Es schien ferner auch wichtig, eine bestimmte Anzahl von Proben herauszugreifen, um einen konkreten Ueberblick über das Gesamtmaterial eines bestimmten Zeitabschnittes zu erhalten. Zu bemerken wäre ferner noch, dass das Material durchweg nach 24stündigem Brutofenaufenthalt nachuntersucht wurde, zumal da ich in einer Reihe Vorproben keinen durchgreifenden Unterschied erkennen konnte, wenn ich das Material nach 48 Stunden untersuchte.

Hier möchte ich darauf hinweisen, dass das 2%ige Glyzerinwasser ein sehr guter Nährboden für eine Reihe von Begleitbakterien ist, die vielfach schon bei der Lungenschleimentnahme auf den Gazestreifen, selbst bei sauberster Handhabe, aufgebracht werden. Die Vermehrung der Bakterien im Glyzerinwasser zeigt sich schon daran, dass die Prüfung des frischen Ausstriches des nicht vorbehandelten Materials die Bakterienarten, die sich nachher so ausgezeichnet vermehrten, kaum erkennen liess. Es handelt sich um Kokken verschiedenster Art.

Um den Nachweis für diese, gelegentlich gemachte Beobachtung zu erbringen, wurde eine grössere Anzahl steriler Röhrchen mit 2%iger

Glyzerinwasserlösung gefüllt und darauf sterilisiert. Jedes Röhrchen enthielt 5 ccm. Flüssigkeit. Darnach wurde je eine Oese Coli- und Diplokokkenkultur hineingesät. Während das Wachstum in den reinen Glyzerinwasserröhrchen zwar deutlich erkennbar war, aber doch spärlich blieb, wuchsen und vermehrten sich die Bakterienarten innerhalb 12-20 Stunden jedesmal sehr gut, wenn zu den Röhrchen nur je 0,0003 ccm. Serum hinzugefügt wurden.

Die Prüfung dieser Frage erschien auch aus dem Grunde naheliegend, weil bei der festgestellten erheblichen Vermehrung der Begleitbakterien im Glyzerinwasser anzunehmen war, dass die Tuberkelbazillen in ihrer Vermehrung, entgegen der Scharr'schen Auffassung, gehemmt würden. Soviel konnte bis jetzt festgestellt werden, dass säurefeste Stäbchen trotz Beimengung von Begleitbakterien im Glyzerinwasser sehr gut fortkamen und sich auch vermehrten, während die mit Antiformin behandelten gleichen Proben des Ausgangsmaterials eine ganz erhebliche Verminderung der säurefesten Stäbchen zeigten, die bis zum vollständigen Verschwinden ging. Darin liegt nach meiner bisherigen Beobachtung doch eine wesentliche Ueberlegenheit des Antiforminverfahrens.

Im Uebrigen ist noch nachzutragen, dass die Vermehrung der Begleitbakterien eine Verimpfung des Materials in der angereicherten Form niemals zulässt, denn alle geimpften Meerschweinchen gingen bisher ein. Es muss deshalb ein Teil von vornherein für die Verimpfung des Materials abgesondert aufgearbeitet werden.

Trotz aller dieser Beobachtungen wurde das Verfahren ganz objektiv geprüft, zumal da die Möglichkeit einer 95%igen Ausbeute an positiven Fällen unter Umgehung des Meerschweinchenversuchs eine erhebliche Verminderung der Unkosten mit sich gebracht hätte.

Nach den Berichten des Bakteriologischen Instituts Münster (8) wurden im ersten Vierteljahr 1925 314 mit der Trachealkanüle entnommene Lungenschleimproben untersucht. Das Material wurde vor der Aufarbeitung im Glyzerinwasser mikroskopisch geprüft und der Befund festgelegt. Danach wurde der Tupfer mit 10 ccm. Glyzerinwasser zusammengebracht gründlich umgeschüttelt und ein geringer Teil der frischen Aufschwemmung mit einem kleinen Teil des Tupfers beiseite gestellt und kühl für einen etwa notwendig werdenden Impfversuch aufbewahrt. Die Ausgangsröhrchen wurden in den Brutofen gebracht und 24 Stunden dort eingestellt. Danach hatte sich der Röhrcheninhalt meist infolge Vermehrung der Begleitbakterien mehr oder weniger stark getrübt. Nach Entfernung und vorheriger gründlicher Ausquetschung des Tupfers mit einer sterilen Pinzette wurde die Gesamtflüssigkeit nunmehr auf Machens'sche Röhrchen gefüllt und diese dann bei 3000 Umdrehungen 20 Minuten lang zentrifugiert. Der im Spitzröhrchen angesammelte Bodensatz wurde auf Objektträger ausgestrichen und mikroskopisch nach vorausgegangener Färbung nach Spengler und Ziehl-Neelsen untersucht.

Von 113 Proben dieser Reihe konnten sofort, ohne entspechende Vorbehandlung, bei 75=23 % Tuberkelbazillen mikroskopisch ermittelt werden. In 55 Proben = 17 % wurden erst nach der Anreicherung im Glyzerinwasser Tuberkelbazillen gefunden. Die restlichen 184 Proben mußten, da mikroskopisch weder vor noch nach der Anreicherung Tuberkelbazillen gefunden wurden, verimpft werden. Nun wurden aus dieser Zahl nochmals 66 Proben = 21 % durch den Impfversuch als von tuberkulösen Tieren stammend erkannt. Die übrigen 118 Proben blieben negativ. Beurteilt man das Ergebnis zusammenhängend, so ergibt sich, dass von insgesamt 314 Proben:

23,8 % vor der Anreicherung,
17,5 % nach der Anreicherung,
21,0 % nach der Impfung,

positiv waren und

37,5 % negativ blieben.

Wenn das Ergebnis auch günstig erscheint, sobald man die vor und nach der Anreicherung gewonnenen Ergebnisse nur auf die Gesamtzahl der mikroskopisch positiven Proben bezieht, bleibt aber immer noch das objektive Ergebnis, dass noch ein überschiessender Teil der Proben trotz vorheriger eifrigster Durchsuchung erst nach der Impfung als positiv erkannt werden konnte. Es kann somit leider das außerordentlich günstige 95 %ige Ergebnis der rein mikroskopischen Untersuchung Scharr's nicht bestätigt werden. Das liegt zum Teil sicher schon daran, daß der Termin der Schleimentnahme vielfach so ungünstig getroffen wird, daß nur ganz wenige oder überhaupt keine Tuberkelbazillen im Material, selbst in positiven Fällen, vorhanden sind.

In einer Reihe von sicher positiven Fällen, auf die an anderer Stelle noch einzugehen sein wird, konnte der Nachweis ganz einwandfrei geführt werden, daß Proben selbst nach der Verimpfung negativ blieben, während neue, innerhalb der Beobachtungsfrist des Impfversuchs eingesandte Proben desselben Falles schon mikroskopisch zahlreiche Tuberkelbazillen nachweisen ließen.

Es kann sein, daß, wenn ein guter, die Feststellung der Tuberkulose beherrschender Stab klinisch einwandfrei untersuchender Tierärzte herangebildet ist, die Ergebnisse günstiger werden.

Andererseits dürfte aber sicher sein, daß eine Vermehrung der Tuberkelbazillen in dem Glyzerinwasser innerhalb der kurzen von Scharr vorgesehen Frist nicht stattfindet. Die erhebliche Vermehrung der Begleitbakterien, die sich kaum je ganz verhindern läßt, läßt den an sich so schon langsam wachsenden, schwer züchtbaren Rindertuberkulosebazillus kaum fortkommen. Wenn man auch nach der Anreicherung noch einen Ueberschuß von 17% positiver Ergebnisse bekommt, so ist das zweifellos auf die bessere Verteilung des Materials und das gründliche Ausschleudern zurückzuführen, wodurch eine Einengung der Tuberkelbazillen erzielt wird. Dass die Methode einen Fortschritt bedeutet, der nicht zum mindesten in

der Anwendung der nur die Tuberkelbazillen färbenden, alles andere Material ungefärbt lassenden, Spengler'schen Färbung begründet liegt, beweist eine Beobachtung, die in 2 Fällen gemacht wurde.

Es hatten zwei Tierärzte, nachdem sie von einem offentuberkulösen Tier Lungenschleim entnommen hatten, ohne gründliche Sterilisation der Instrumente die für die erste Probe benutzte Trachealkanüle verwandt, um von anderen Tieren desselben Bestandes Proben zu entnehmen. Diese Tatsache hatte genügt, in der ganzen übrigen Reihe der Proben, bis zu 7, mikroskopisch Tuberkelbazillen nachweisen zu lassen. Das war früher nur durch den Impfversuch möglich.

Daraus erhellt aber auch wieder, daß die Methode außerordentlich fein ist, so fein, daß ebenfalls eine größere Anzahl Fehlresultate unvermeidbar ist, wenn man nicht auf ausgezeichnet untersuchende und befähigte Diagnostiker sich stützen kann.

Es wird früher oder später bei weiterem Ausbau der Methode dahin kommen müssen, in nicht einwandfreien Fällen noch besondere diagnostische Methoden anzuwenden. Inwieweit die Komplementablenkung und die interferometrische Methode allein oder beide zusammen auszubauen sind, wird geprüft werden müssen. Untersuchungen über die Bedeutung der Komplementablenkung werden im Bakteriologischen Institut angestellt.

An den vorgenannten Untersuchungen war ich zum Teil mit beteiligt und habe mir infolgedessen auch ein Urteil über die beregten Fragen bilden können. Es erschien aber außerordentlich wichtig, noch einmal einen größeren Teil von Proben in Vergleichsversuchen darauf zu prüfen, ob das Antiforminverfahren gleichbedeutend sei mit dem Scharr'schen Verfahren, und anderseits zu ermitteln, welche Vorzüge das eine vor dem anderen hätte.

Nachstehend gebe ich einige Tabellen, in denen gezeigt wird, inwieweit durch Glyzerinwasser und Antiformin eine Anreicherung der Tuberkelbazillen erfolgt.

Zur Untersuchung gelangte vornehmlich Lungenschleim, wo anderes Material verwandt wurde, wie Lymphknoten und tuberkulöser Käse oder Milch, ist auf diese Aenderung im Versuchsprotokoll besonders hingewiesen.

Dem Gange der Untersuchung entsprechend sollte dies Material nicht für eine Tuberkulose-Statistik verwandt werden, sondern es sollte überhaupt rein praktisch festgestellt werden, inwieweit durch die beiden Anreicherungsverfahren eine Vermehrung der Tuberkelbazillen im mikroskopischen Bilde zu erzielen sei. Anderseits sollte durch vergleichende Versuche festgestellt werden, ob wirklich im Glyzerinwasser, wie Scharr behauptet, auch eine Vermehrung der Tuberkelbazillen stattfindet.

Bei nachweisbarer Vermehrung der Tuberkelbazillen im Glyzerinwasser hätte dann jedesmal in den positiven Fällen das Glyzerinröhrchen eine größere Anzahl Tuberkelbazillen aufweisen müssen, wie das Antiforminröhrchen, da ja im Antiformin keine Vermehrung erfolgen kann.

Der besseren Uebersicht halber sind die einzelnen Untersuchungen auf mehrere Tabellen verteilt.

Tabelle I.

No.	Material	Tuberkelbazillen			Bemerkungen
		Vor Anreicherung	Nach Glyzerinwasser	Nach Antiformin	
1	Lungenschleim	—	2—3	2—3	in jedem Gesichtsfeld
2	„	—	1	1	„
3	„	—	3[1] im Präparat	6 im Präparat	[1] 3—6 säurefeste Stäbchen
4	„	—	5	4	im ganzen Präparat
5	„	Keine Tb.-Baz. einige andere säurefeste Stäbchen	2 im Präparat sehr viel anderesäurefeste Stäbchen	3 im Präparat	—
6	„	—	1	1	in jedem Gesichtsfeld
7	„	—	2	2	„
8	„	—	1	1	„
9	„	—	6	5	in 30 Gesichtsfeldern
10	Käse eines Abszesses	—	2 im Präparat	1 in jedem Feld	—
11	Lungenschleim	—	2	2	in jedem Gesichtsfeld
12	„	—	Viel säurefeste Stäbchen	Keine Tb.-Bazillen, keine säurefeste Stäbchen	—
13	„	keine Tb.-Baz., einige säurefeste Stäbchen	Sehr viel säurefeste Stäbchen	Keine Tb.-Bazillen, keine säurefeste Stäbchen	—
14	„	—	6	5	im ganzen Präparat
15	„	—	1—2	3—4	in jedem Gesichtsfeld
16	„	—	Einige säurefeste Stäbchen, keine Tuberkelbazillen	6	—

Fortsetzung.

No.	Material	Tuberkelbazillen			Bemerkungen
		Vor Anreicherung	Nach Glyzerinwasser	Nach Antiformin	
17	Lungenschleim	—	1	3	im ganzen Präparat
18	„	—	keine Tub.-Bazillen	3	„
19	Lymphknoten eines Meerschweinchens	—	1 im ganzen Präparat	2 in jedem Gesichtsfeld	—
20	Käse aus einer Kuhlunge (verkäster Herd)	—	2	2	im ganzen Präparat

Es zeigt sich, daß von 20 Proben, unter denen 17 Lungenschleimproben waren, und in denen vor der Anreicherung keine Tuberkelbazillen, sondern nur in den Proben 5 und 13 säurefeste Stäbchen nachgewiesen werden konnten, 13 Proben Tuberkelbazillen nach der Anreicherung im Glyzerinwasser erkennen liessen. 2 Proben, die den Käse eines Erweichungsherdes enthielten, jedenfalls vor der Anreicherung keine Tuberkelbazillen erkennen liessen, zeigten nach der Anreicherung in beiden Fällen Tuberkelbazillen. Ein durchgreifender Unterschied in der Zahl der Tuberkelbazillen in den Glyzerinwasser- und Antiforminröhrchen ließ sich nicht erkennen.

Es zeigt sich aber anderseits, daß sich die säurefesten Stäbchen im Glyzerinwasser ganz erheblich vermehrten, wie in den Proben 5, 12 und 13, was bei der Antiforminbehandlung des betreffenden Materials nicht in die Erscheinung trat.

In der Tabelle II wurden Proben aufgeführt, in denen schon vor der Anreicherung Tuberkelbazillen nachweisbar waren.

Tabelle II.

No.	Material	Tuberkelbazillen			Bemerkungen
		Vor Anreicherung	Nach Glyzerinwasser	Nach Antiformin	
21	Lungenschleim	3 im ganzen Präparat	6 und viele säurefeste Stäbchen	2	im ganzen Präparat
22	„	1	2	2	in jedem Gesichtsfeld
23	„	28, davon ein Nest mit 26	7	5	im ganzen Präparat
24	„	6 im ganzen Präparat	2—3 in jedem Gesichtsfeld	2—3 in jedem Gesichtsfeld	—
25	„	3 in jedem Gesichtsfeld, meist in Nestern	3	2	in jedem Gesichtsfeld
26	„	1	13	11	„
27	„	2—3	5	5	„
28	„	1	1	1	„
29	Lymphknoten eines Meerschweinchens	5 einzelne, und 1 Nest von 16 im ganzen Präparat	1	1	„
30	„	1	3	3	„
31	„	7 im Präparat	5	4	„
32	Milch	3 in 20 Feldern	3 in jedem Feld	2	„
33	Lymphknoten eines Meerschweinchens	2 im Präparat	2 in jedem Feld	2	„
34	Lungenschleim	1	30—40	30—40	„
35	„	3	4	3	im ganzen Präparat

Es zeigt sich, daß im Allgemeinen eine nennenswerte Vermehrung der Tuberkelbazillen nicht stattgefunden hat, nur in Probe 26 und 34, in der vor der Anreicherung je ein Tuberkelbazillus war, zeigten sich nach der Anreicherung 30—40 Tuberkelbazillen im Gesichtsfeld. Dagegen zeigte Probe 23, die vor der Anreicherung 28 Tuberkelbazillen erkennen ließ, nach der Anreicherung merkwürdigerweise 5 Tuberkelbazillen im ganzen Präparat. Auch hiernach läßt sich nicht sagen, daß eine nennenswerte Vermehrung der Tuberkelbazillen stattgefunden hat. Wahrscheinlich ist infolge einer besseren Verteilung der Tuberkelbazillen in den Proben 26 und 34 nach der Behandlung mit Glyzerinwasser und Antiformin das Ergebnis so günstig geworden.

In der letzten Tabelle sind ebenfalls Lungenschleimproben und Lymphknoten, die zerquetscht worden waren, von tuberkulösen Meerschweinchen, zur Untersuchung gekommen und zwar neben 57 Lungenschleimproben 9 Lymphknoten und 2 Milchproben.

Tabelle III.

No.	Material	Tuberkelbazillen			Bemerkungen
		Vor Anreicherung	Nach Glyzerinwasser	Nach Antiformin	
36	Lungenschleim	3 im ganzen Präparat	6	9	in jedem Feld
37	„	5–8	zahlreich	zahlreich	„
38	„	4	5	6	„
39	„	zahlreich	zahlreich	zahlreich	„
40	Milch	unzählig	unzählich	unzählich	in jedem Feld sah man nur Tb.-Bazillen
41	Lymphknoten	2	1	2	in jedem Feld
42	Lungenschleim	1	1	2, schön gekörnte Splitterform	„
43	„	2	2	2	„
44	„	3	1	2	„
45	„	1—2	1	3	„
46	„	2—3	3	5	„
47	„	5 im ganzen Präparat	1 in jedem Feld	3 in jedem Feld hauptsächlich gekörnte	—
48	„	40 in einem Nest, sonst 1 in jedem Feld	6	6	„
49	„	1	3	4	„
50	„	7	4	6	„
51	„	1	1	2	„
52	„	1	2	5	„
53	„	3 im ganzen Präparat	5 in 30 Feldern	1 in jedem Feld	—
54	„	3	2	18	im ganzen Präparat
55	„	1	1	2	in jedem Feld
56	„	5	2	6	„
57	„	1	2	4	„
58	„	3	2	3	„

Fortsetzung.

No.	Material	Tuberkelbazillen			Bemerkungen
		Vor Anreicherung	Nach Glyzerinwasser	Nach Antiformin	
59	Lungenschleim	2	3	5	in jedem Feld
60	„	3 im ganzen Präparat	1	2	„
61	„	6	3	6	in 30 Feldern
62	„	2	2	5	in jedem Feld
63	„	3	1	1 (verschwommenes Aussehen, als ob die Kapsel erweicht wäre	„
64	„	2 in 20 Feldern	1 in jed Felde	2 in jed. Felde	—
65	„	unzählig	unzählig	unzählig	—
66	Lymphknoten	4 in jedem Felde	20—30 in jedem Felde	ca. 50 in jedem Felde	—
67	Lungenschleim	1	2	3	in jedem Feld
68	„	6 im ganzen Präparat	3 im ganzen Präparat	3 in jed. Feld	—
69	„	1	3	3	in jedem Feld
70	„	1	2	9	„
71	„	1	1	1	„
72	„	1	2	2	„
73	„	2	2	5	„
74	„	1 im ganzen Präparat	1 in 50 Feldern	6 in 50 Feldern	—
75	„	1	1	3	in jedem Feld
76	„	2	2	3	„
77	„	5	10	17	in je 50 Feldern
78	„	3 im ganzen Präparat	9	17	„
79	„	1	1	mindestens 30, in einigen Feldern zahllos	in jedem Feld
80	„	2 im Präparat	1	1	„
81	„	5 im Präparat	1	2	„
82	„	7 im Präparat	13 im Präparat	1 in jed. Feld	—

Fortsetzung.

No.	Material	Tuberkelbazillen			Bemerkungen
		Vor Anreicherung	Nach Glyzerinwasser	Nach Antiformin	
83	Lymphknoten	1	1	3	in jedem Feld
84	„	1	4	8	„
85	„	1	1	10	„
86	„	1	1	mindestens 30	„
87	„	3 im Präparat	1	2	„
88	„	1	1	9	„
89	„	1	2	5	„
90	Lungenschleim	2	8	13	im ganzen Präparat
91	„	4	20	30—50	in jedem Feld
92	„	1	4	5	„
93	„	3	3	5	„
94	„	1	2	4—5 (schön gekörnte)	„
95	„	1	2	5—6	„
96	„	15 im Präpar.	1—2 in einem einzelnen Feld 28	2—3, in manchen 10-20	„
97	„	1	4—5 und einige andere säurefeste Stäbchen	10—20, in manchen Feldern 50 u. mehr	—
98	Milch	zahllos	zahllos	zahllos, sehr schön gekörnte	in jedem Feld
99	Lungenschleim	1	1—3	3—5	„
100	„	7 im Präparat	1 in jedem Feld	1—4 in jedem Feld	—
101	„	1—2	1	3—5	in jedem Feld
102	„	6 im Präparat	1	3—4	„
103	„	2	6—8	15—20	„

Es zeigte sich auch hier, daß eine nennenswerte Vermehrung der Tuberkelbazillen im Glyzerinwasser nicht stattgefunden hatte. Bemerkenswert erscheint hier nur der Befund im Präparat 48, wo vor der Anreicherung 40 Tuberkelbazillen in einem Nest gefunden wurden, nach der Anreicherung in jedem Falle 6 Tuberkelbazillen. Dieser Befund läßt mit größerer Wahrscheinlichkeit darauf schließen, daß eine Homogenisierung stattfindet, und damit eine bessere Verteilung der Tuberkelbazillen. In Präparat 66 ist ein Lymphknoten verarbeitet worden. Hier waren vor der Anreicherung 4 Tuberkelbazillen in jedem Feld gefunden worden, nach der Glyzerinanreicherung wurden 20-30 und nach der Antiforminanreicherung 50 Tuberkelbazillen in jedem Gesichtsfeld ermittelt. Hier ist durch die bessere Auslaugung des Lymphknotens durch Antiformin eine noch bessere Ausbeute an Tuberkelbazillen erzielt worden, wie sie durch das Glyzerinwasser erzielt werden konnte.

Im allgemeinen kann man aber wohl sagen, daß das Glyzerinwasser- und Antiforminverfahren zweifellos eine Verbesserung des Tuberkelbazillennachweises bedeutet.

Eine Vermehrung der Tuberkelbazillen findet in keinem Falle bei der Anwendung des Glyzerinwasser-Verfahrens statt. Es handelt sich entweder um eine Homogenisierung der Tuberkelbazillen, oder um eine Einengung der schon vorher im Material vorhandenen Tuberkelbazillen, und damit tritt eine scheinbare Anreicherung ein.

Die Ausbeute der positiven Fälle läßt sich zweifellos noch vermehren, wenn befähigte Tierärzte mit der Untersuchung auf Tuberkulose betraut werden.

An sich ist das Verfahren dadurch wertvoll, daß die Diagnostik durch Ersparnis an Arbeitskräften und Versuchstieren wesentlich verbilligt wird.

Eine Ueberlegenheit des Scharr'schen Verfahrens gegenüber dem Machens'schen konnte nicht festgestellt werden.

Literaturverzeichnis.

1. von Ostertag, R.: Die Bekämpfung der Tuberkulose des Rindes. 1913.
2. Gasis, D.: Differentialfärbungsmethode der Tuberkelbazillen. Berl. klin. Wochenschr. 1909 No. 18 und 1910 No. 31.
3. Adam J.: Ueber einige neuere Tuberkelbazillenfärbemethoden. Jnaug. Diss. Leipzig, 1910.
4. Mühlhäuser und Czaplewski: Die Untersuchungen des Auswurfs auf Tuberkelbazillen. Zeitschrift für Tub. Bd. I, S. 387.
5. Lange und Nitsche: Eine neue Methode des Tuberkelbazillennachweises, Deutsche med. Wochenschr. 1909, Nr. 10.
6. Machens: Zur Verbesserung des Antiforminverfahrens beim Nachweis von Tuberkelbazillen. D. t. W. 1921, S. 15.
7. Scharr: Weitere Forschungsergebnisse auf dem Gebiete der Feststellung der offenen Lungentuberkulose beim Rinde. D. t. W. 1924.
8. Sachweh: Jahresbericht des bakteriologischen Instituts der Landwirtschaftskammer für die Provinz Westfalen, Münster.

Lebenslauf.

Adolf Tieding, geboren am 11. Juli 1889 zu Lingen (Ems), besuchte von 1895—1900 die Bürgerschule, von 1900—1910 das Gymnasium Georgianum in Lingen, das ich Februar 1910 mit dem Reifezeugnis verliess. Nach Ablauf meiner Militärdienstzeit wurde ich zur Militär-Veterinär-Akademie in Berlin kommandiert, bestand an der tierärztlichen Hochschule Berlin die naturwissenschaftliche Prüfung am 26. Januar 1913 und am 21. Dezember 1914 die Fachprüfung ebenfalls in Berlin. Ich besuchte nur die tierärztliche Hochschule Berlin. Am Kriege habe ich als aktiver Veterinäroffizier teilgenommen. Von Januar bis August 1919 war ich als Oberveterinär beim Freikorps Maerker. Nach meiner Entlassung aus dem Militärverhältnis gründete ich mir eine Praxis in Rehren, Amt Obernkirchen und wurde am 17. April 1925 zum Schlachthofdirektor in Lingen (Ems) gewählt. Diese Stelle habe ich am 1. September 1925 angetreten.

Adolf Tieding.